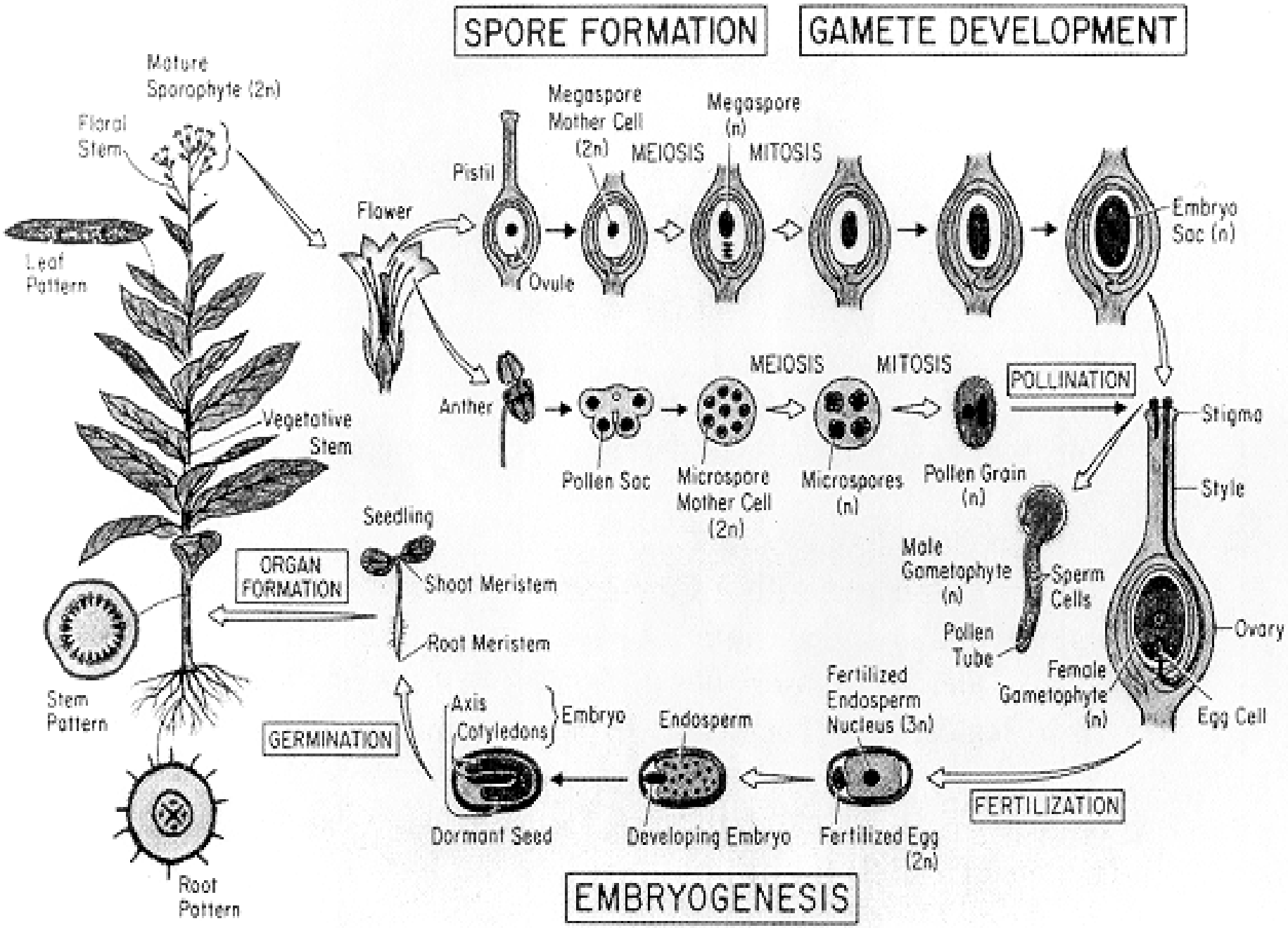
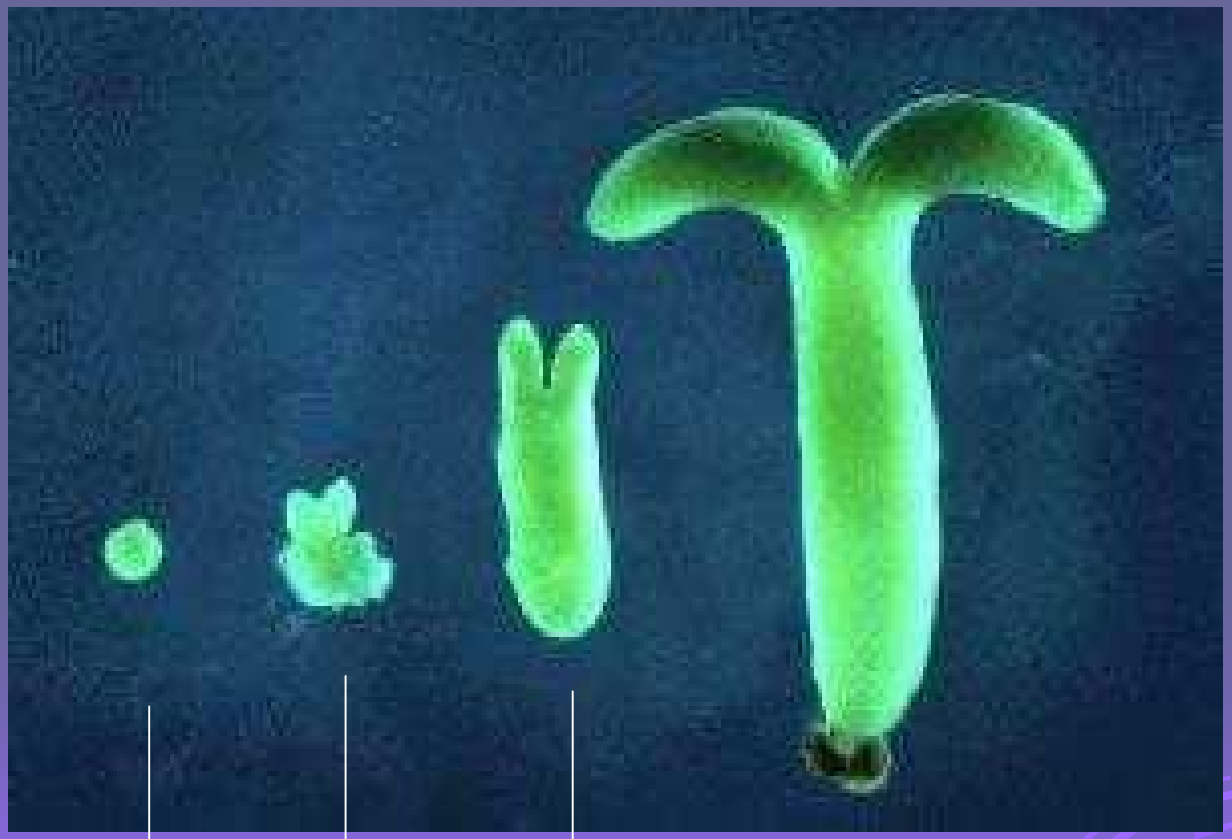
3. SOMATİK EMBRİYOGENESİS

Bağımsız vasküler sistemi olan ve kök ile sürgün aks'ini içeren iki kutuplu bir yapının oluşmasına yol açan bir süreçtir. *In vitro* koşullarda vejetatif hücrelerden gelişen embriyo oluşumu somatik embriyogenesis olarak tanımlanmaktadır.


SPORE FORMATION
GAMETE DEVELOPMENT
Mature Sporophyte (2n)
Floral Stem
Leaf Pattern
Vegetative Stem
Stem Pattern
Root Pattern
Flower
Pistil
Ovule
Megaspore Mother Cell (2n)
MEIOSIS
Megaspore (n)
MITOSIS
Embryo Sac (n)
Anther
Pollen Sac
Microspore Mother Cell (2n)
MEIOSIS
Microspores (n)
MITOSIS
Pollen Grain (n)
POLLINATION
Stigma
Style
Ovary
Egg Cell
Male Gametophyte (n)
Sperm Cells
Pollen Tube
Female Gametophyte (n)
Fertilized Endosperm Nucleus (3n)
FERTILIZATION
Fertilized Egg (2n)
Developing Embryo
Endosperm
Dormant Seed
Axis
Cotyledons
Embryo
GERMINATION
Seedling
Shoot Meristem
Root Meristem
ORGAN FORMATION
EMBRYOGENESIS

Dikotiledon Bitkilerde Somatik Embriyoların Gelişim Dönemleri



Somatik Embriyo Rejenerasyonu

Direkt Embriyogenesis

Eksplant

↓

Somatik embriyolar

↓

Bitki

İndirekt Embriyogenesis

Eksplant

↓

Kallus

↓

Pro-embriyolar

↓

Bipolar embriyolar

↓

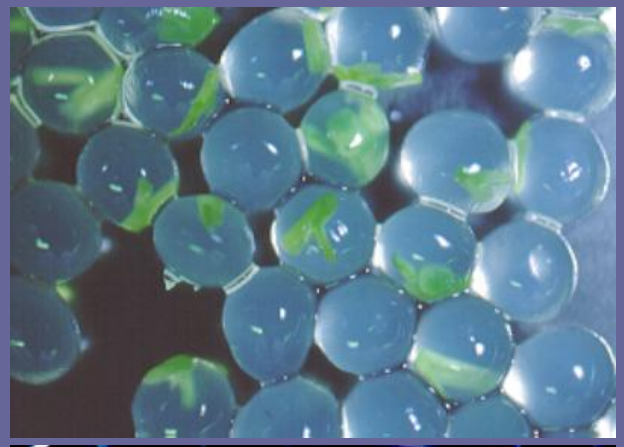
Bitki

*Paulownia elongata'*da indirekt somatik embriyogenesis



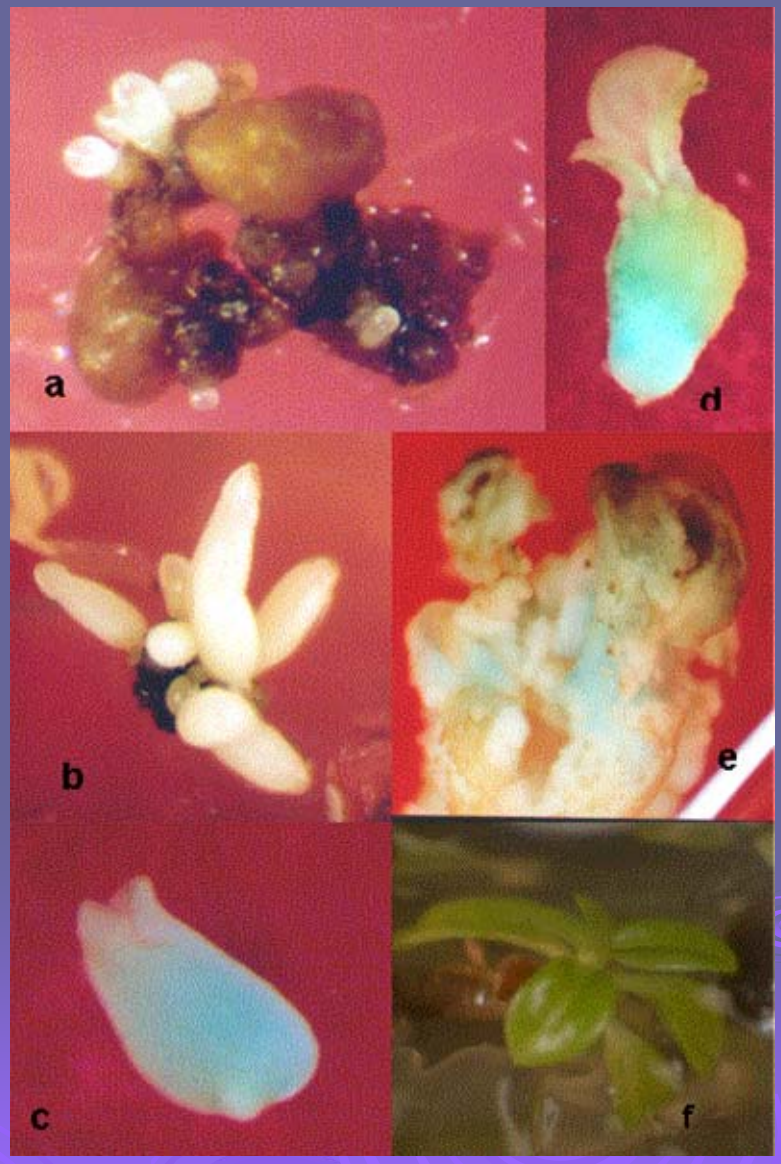
Somatik Embriyogenesisin Kullanım Alanları

- Klonal çoğaltım
- Sentetik tohum üretimi
- Gen aktarımı
- Genetik materyallerin muhafazası





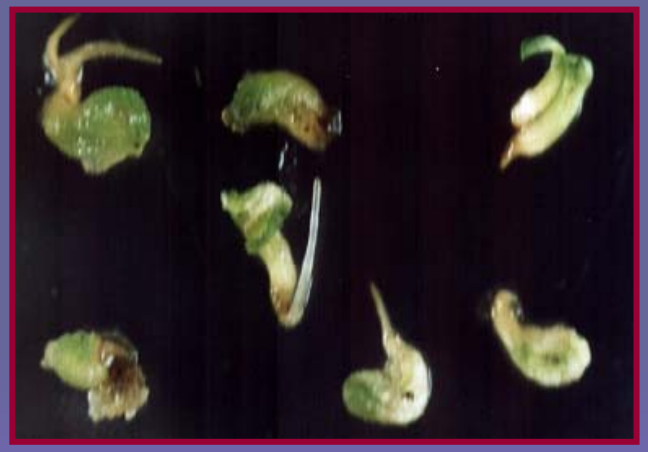
Sentetik (=artificial) tohumlar



Gen aktarımında somatik embiyogenezis kullanımı

Pamukta Somatik Embriyogenesis





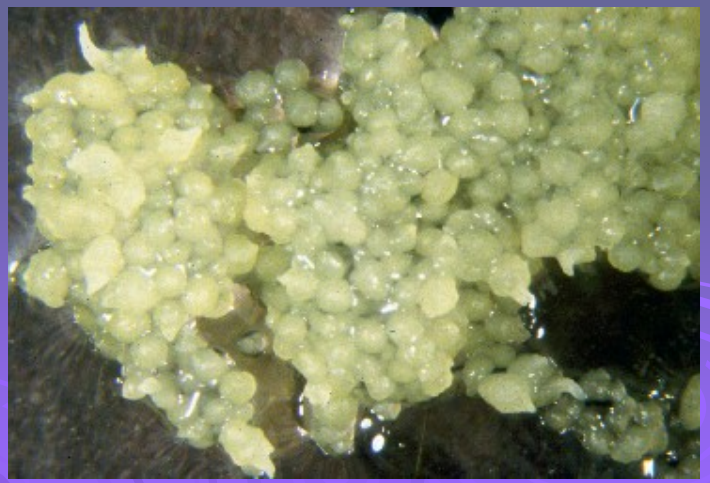


Somatik Embriyogeneziste Başarıyı Etkileyen Faktörler

1) Genotip
2) Eksplant kaynağı
3) Besin ortamının içeriği
4) İnkübasyon koşulları

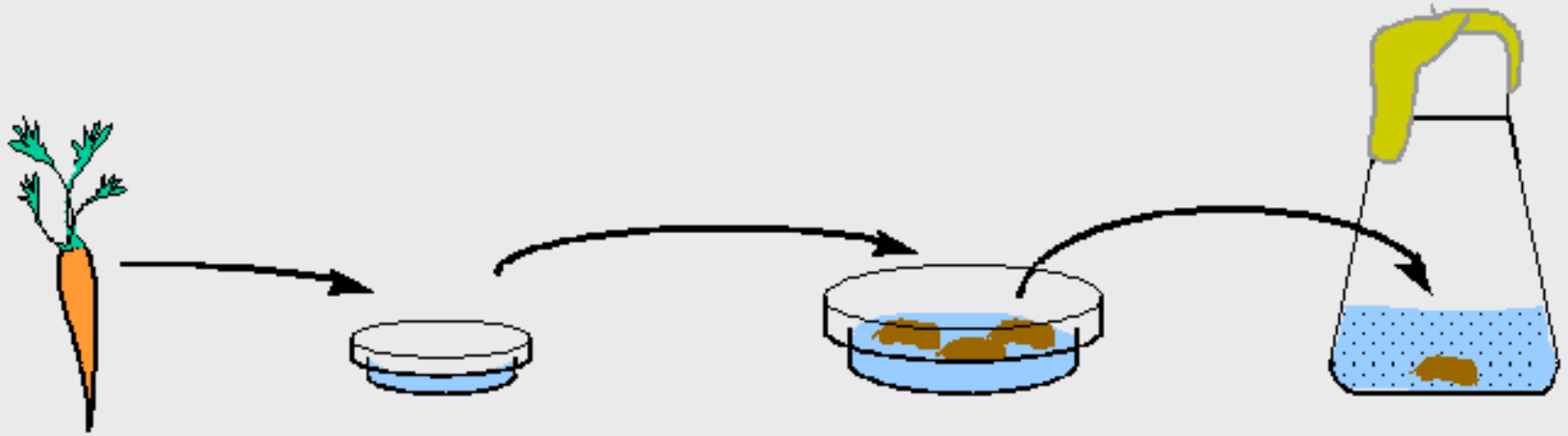






Somatic embryogenesis of *Daucus carota*: standard protocol

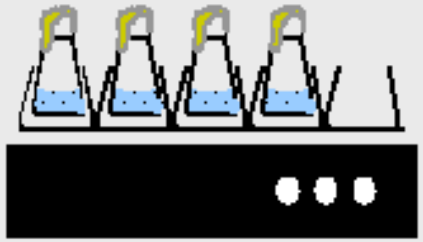
(Ammirato, 1983)



Place 0.5-1 cm petiole explant or 0.5cm ^{3} storage root explant on MS agar medium + 4.5 ùM 2,4-D

After 4 weeks growth (dark or lighted) there is enough callus

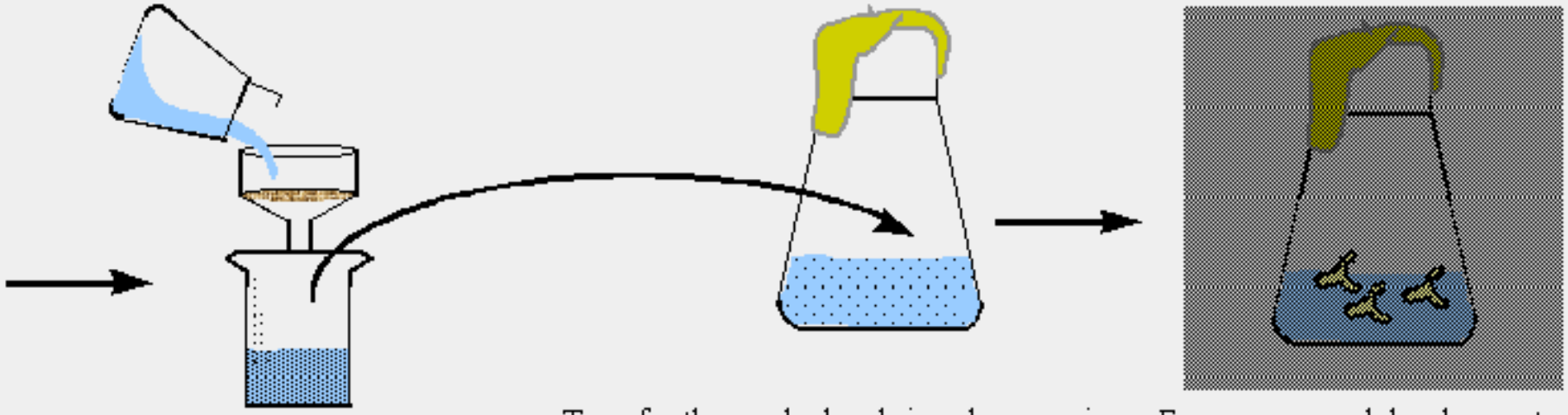
Subculture 2.0 -3.0 g of callus into 50ml of MS liquid medium + 4.5 µM 2,4-D contained in a 250 ml Erlenmeyer flask



Erlenmeyers are placed on a gyrotary shaker and maintained at 25°C and agitated 125-160 rpm

Subculture every 14-18 days

Aseptically aspirate and/ or decant the stale medium and resuspend the cells onto culture medium devoid of 2,4-D for initiation of embryo development



Pass the proembryo suspension through a series of mesh sieves for a uniform embryo population.

Transfer the washed and sieved suspension to 50ml of MS basal medium in Erlenmeyers. For more normal embryo development and to inhibit precocious germination, especially root elongation, 0.1-1 µM ABA can be added

For more normal development cultures should be grown in darkness. Embryos should appear in about 8 days and reach mature size in 10-15 days



Somatic embryos can be placed out on agar medium devoid of 2,4-D for plantlet development

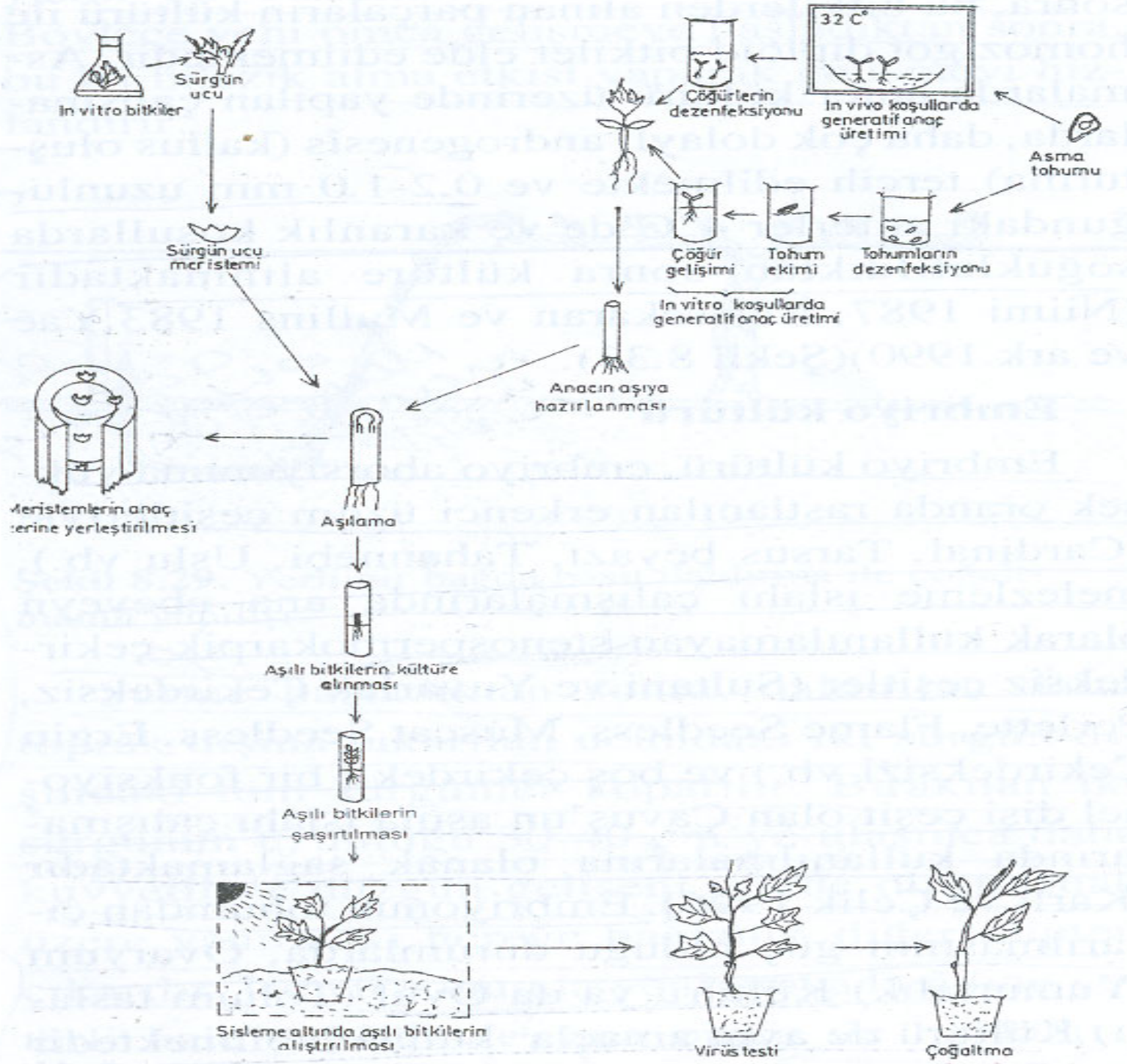
Plantlets are transferred to Jiffy pots or vermiculite for subsequent development

4. IN VITRO MİKROAŞILAMA



Mikro aşılama, özellikle köklenme sağlanamadığı için meristem kültürü yoluyla tam bitki elde edilemeyen türlerde (meyve türlerinin büyük çoğunluğu) virüslerden ari bitki eldesinde kullanılan bir tekniktir. Tekniğin esası, anaç çöğürlerine ait genç sürgünün 1.5-2.0 cm'den tepesi vurulduktan sonra, bunun üzerine 0.1-0.5 mm büyüklüğündeki sürgün ucu meristeminin *in vitro* koşullarda aşılanmasıdır.




In vitro bitkiler
Sürgün ucu
Sürgün ucu meristemi
Meristemlerin anaç
erine yerleştirilmesi
Çöğürlerin dezenfeksiyonu
32 C°
In vivo koşullarda generatif anaç üretimi
Asma tohumu
Çöğür gelişimi
Tohum ekimi
Tohumların dezenfeksiyonu
In vitro koşullarda generatif anaç üretimi
Anacın aşıya hazırlanması
Aşılama
Aşılı bitkilerin kültüre alınması
Aşılı bitkilerin şaşırtılması
Sisleme altında aşılı bitkilerin alıştırılması
Virüs testi
Çoğaltma

5. KALLUS KÜLTÜRÜ

Kallus kültürü, bitki parçalarının uygun besin ortamlarında kallus oluşturmasıdır. Kallus kültüründe genellikle gövde ve köklerdeki kambiyal dokular kullanılmakla birlikte; meyve, polen, endosperm, olgun ya da olgun olmayan embriyo da başlangıç materyali olarak kullanılmaktadır.





Kallus Kültürünün Kullanılış Amaçları

1. Genetik varyasyon yaratmak suretiyle bunlar arasında amaca uygun olanların seçilmesi,
2. Virüsler bulaşık olmayan kallus hücrelerini izole ederek virüssüz bitkiler elde edilmesi,
3. Kallus dokularından yararlanılarak aşı uyuşmazlığının belirlenmesi.
4. Fizyolojik araştırmaların yapılması,
5. Hücre süspansiyon kültürünün ilk aşaması olarak



Yaprak dokusundan meydana gelen kallus



Embriyo dokusundan meydana gelen kallus



Kök dokusundan meydana gelen kallus